

PCT

世界知的所有権機関
国際事務局
特許協力条約に基づいて公開された国際出願



(51) 国際特許分類6 A61K 31/20, 31/23, A23L 1/30		A1	(11) 国際公開番号 WO99/12538
			(43) 国際公開日 1999年3月18日(18.03.99)
(21) 国際出願番号 PCT/JP98/03911			正木恭介(MASAKI, Kyosuke)[JP/JP] 〒830-0027 福岡県久留米市長門石2-2-80-901 Fukuoka, (JP)
(22) 国際出願日 1998年8月31日(31.08.98)			清水精一(SHIMIZU, Seiichi)[JP/JP] 〒841-0051 佐賀県鳥栖市元町1237-2-1001 Saga, (JP)
(30) 優先権データ 特願平9/241061	1997年9月5日(05.09.97)	JP	(74) 代理人 弁理士 亀井弘勝(KAMEI, Hirokatsu) 〒541-0054 大阪府大阪市中央区南本町4丁目5番20号 住宅金融公庫・住友生命ビル12F あい特許事務所 Osaka, (JP)
(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 大塚製薬株式会社 (OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD.)[JP/JP] 〒101-8535 東京都千代田区神田司町2丁目9番地 Tokyo, (JP)			(81) 指定国 CA, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
(72) 発明者 ; および (75) 発明者／出願人 (米国についてのみ) 野田恒行(NODA, Tsuneyuki)[JP/JP] 〒839-0811 福岡県久留米市山川神代1-10-38 601号 Fukuoka, (JP)			添付公開書類 国際調査報告書
戸羽正道(TOBA, Masamichi)[JP/JP] 〒841-0072 佐賀県鳥栖市村田町17-11 Saga, (JP)			
今田拓磨(IMADA, Takuma)[JP/JP] 〒842-0003 佐賀県神埼郡神埼町大字本堀2583-7 Saga, (JP)			

(54)Title: LIVER FAT ACCUMULATION INHIBITORY COMPOSITION, FOOD ADDITIVE FOR LIVER FAT ACCUMULATION INHIBITION, AND METHOD OF INHIBITING LIVER FAT ACCUMULATION

(54)発明の名称 肝臓脂肪蓄積抑制組成物、肝臓脂肪蓄積抑制用食品添加剤及び肝臓脂肪の蓄積抑制方法

(57) Abstract

A method of inhibiting liver fat accumulation which comprises administering a conjugated-diene linoleic acid homolog to a mammal or making the mammal ingest it; and a liver fat accumulation inhibitory composition characterized by containing an effective amount of a conjugated-diene linoleic acid homolog together with a support for medicinal preparations or foods. The administration or ingestion of CAL inhibits the total lipid content and the triglyceride content in the liver from increasing, and hence can effectively prevent diseases attributable to fatty liver, such as chronic hepatitis and hepatic cirrhosis.

共役ジエンリノール酸を哺乳動物に投与または摂取させることによる肝臓脂肪の蓄積抑制方法、共役ジエンリノール酸の有効量を製剤担体もしくは食品用担体と共に含有することを特徴とする肝臓脂肪蓄積抑制組成物を提供する。本発明によって、C A Lを投与または摂取させることにより、肝臓中の総脂質量、トリグリセライド量の蓄積が抑制されるので、脂肪肝に由来する慢性肝炎、肝硬変等の疾患を有效地に予防できる。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AL アルバニア	FI フィンランド	LK スリ・ランカ	SI スロヴェニア
AM アルメニア	FR フランス	LR リベリア	SK スロヴァキア
AT オーストリア	GA ガボン	LS レント	SL シエラ・レオネ
AU オーストラリア	GB 英国	LT リトアニア	SN セネガル
AZ アゼルバイジャン	GD グレナダ	LU ルクセンブルグ	SZ スワジランド
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE グルジア	LV ラトヴィア	TD チャード
BB バルバドス	GH ガーナ	MC モナコ	TG トーゴー
BE ベルギー	GM ガンビア	MD モルドヴァ	TJ タジキスタン
BF ブルガリア・ファン	GN ギニア	MG マダガスカル	TM トルクメニスタン
BG ブルガリア	GW ギニア・ビサオ	MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR トルコ
BJ ベナン	GR ギリシャ	共和国	TT トリニダード・トバゴ
BR ブラジル	HR クロアチア	ML マリ	UA ウクライナ
BY ベラルーシ	HU ハンガリー	MN モンゴル	UG ウガンダ
CA カナダ	ID インドネシア	MR モーリタニア	US 米国
CF 中央アフリカ	IE アイルランド	MW マラウイ	UZ ウズベキスタン
CG コンゴー	IL イスラエル	MX メキシコ	VN ギエトナム
CH スイス	IN インド	NE ニジェール	YU ユーゴースラビア
CI コートジボアール	IS アイスランド	NL オランダ	ZW ジンバブエ
CM カメルーン	IT イタリア	NO ノルウェー	
CN 中国	JP 日本	NZ ニュージーランド	
CU キューバ	KE ケニア	PL ポーランド	
CY キプロス	KG キルギスタン	PT ポルトガル	
CZ チェコ	KP 北朝鮮	RO ルーマニア	
DE ドイツ	KR 韓国	RU ロシア	
DK デンマーク	KZ カザフスタン	SD スーダン	
EE エストニア	LC セントルシア	SE スウェーデン	
ES スペイン	LI リヒテンシュタイン	SG シンガポール	

明細書

肝臓脂肪蓄積抑制組成物、肝臓脂肪蓄積抑制用食品添加剤及び
肝臓脂肪の蓄積抑制方法

5 技術分野

本発明は新しい肝臓脂肪蓄積抑制組成物、肝臓脂肪蓄積抑制用食品添加剤及び肝臓脂肪の蓄積抑制方法に関する。

背景技術

10 肝臓（肝細胞）に脂肪が過剰に蓄積される疾患である脂肪肝は、過栄養、過アルコール摂取、糖尿病、医薬品等の投与による副作用等によって惹起され、また慢性肝炎、肝硬変等の重篤な疾患の要因とも考えられ、その治療及び予防が重要な課題であるが、現在、摂取される栄養をコントロールすること以外に、安全且つ有効な治療及び予防方法は確立されておらず、そのための薬剤（医薬品）の開
15 発も殆ど行なわれていないのが現状である。

脂肪肝は、生理的範囲を越えて肝臓細胞内に脂質、特に中性脂肪が蓄積した状態をいうが、脂肪沈着の定量的な基準については形態学的、生化学的な明確な定義はなされていない。一般的には、形態学的にすべての小葉を対象にそれらの 1 / 3 以上の領域に亘って肝細胞に著明な中性脂肪の蓄積性の変化を認め、その他には顕著な形態学的異常を認めない場合をいう。また、生化学的には中性脂肪が肝組織湿重量の約 10 % (100 mg / g 湿重量) 以上になることが、脂肪肝と判定されるひとつの目安となっている。

20 本発明の目的は、肝臓脂肪の過剰蓄積を抑制して、脂肪肝、惹いては慢性肝炎、肝硬変等の疾患を有効に予防することのできる新しい組成物およびその抑制方法
25 を提供することにある。

発明の開示

本発明者らは上記の目的に鑑みて、鋭意研究を重ねた結果、共役ジエンリノール酸の摂取乃至投与によれば、肝臓脂肪の蓄積が見事に抑制されるという事実を

見いだした。本発明はこの新しい知見により完成されたものである。

すなわち、本発明は、以下の内容を包含する。

(1) 共役ジエンリノール酸の有効量を製剤担体もしくは食品用担体と共に含有することを特徴とする肝臓脂肪蓄積抑制組成物。

5 (2) 共役ジエンリノール酸がシス-9, トランス-11-オクタデカジエン酸、トランス-10, シス-12-オクタデカジエン酸、それらの異性体、並びにそれらの無毒性塩及びエステルから選択される少なくとも1種である上記(1)項に記載の肝臓脂肪蓄積抑制組成物。

10 (3) 食品形態である上記(1)項又は(2)項に記載の肝臓脂肪蓄積抑制組成物。

(4) 医薬品形態である上記(1)項又は(2)項に記載の肝臓脂肪蓄積抑制組成物。

(5) 共役ジエンリノール酸を有効成分として含有することを特徴とする肝臓脂肪蓄積抑制用食品添加剤。

15 (6) 共役ジエンリノール酸の有効量を哺乳動物に投与または摂取させることを特徴とする肝臓脂肪の蓄積抑制方法。

(7) 肝臓脂肪の蓄積を抑制するための医薬組成物または食品添加剤を調製するための共役ジエンリノール酸の使用。

本発明によれば、共役ジエンリノール酸 (conjugated linoleic acid, 以下「CLA」という) の有効量を製剤担体もしくは食品用担体と共に含有することを特徴とする肝臓脂肪蓄積抑制組成物、CLAを有効成分として含有することを特徴とする肝臓脂肪蓄積抑制用食品添加剤及びCLAを用いる肝臓脂肪の蓄積抑制方法が提供される。

より詳しくは、本発明によれば、CLAがシス-9, トランス-11-オクタデカジエン酸、トランス-10, シス-12-オクタデカジエン酸、それらの異性体、並びにそれらの無毒性塩及びエステルから選択される少なくとも1種である上記組成物及び添加剤、食品形態である上記組成物及び添加剤、並びに医薬品形態である上記組成物及び添加剤と、CLAを対象動物に投与または摂取させる肝臓脂肪の蓄積抑制方法が提供される。

本発明組成物としては、乾燥重量基準でC L Aを0. 2～90%（重量%、以下同じ）含有するものを好ましく例示できる。

本発明組成物は、上記構成としたことに基づき、その摂取乃至投与によって、肝臓脂肪の蓄積を顕著に抑制することができる。その理由は現在不明であるが、

5 上記C L Aの摂取乃至投与によれば、生体におけるフリーラジカルの消去に関与しているとされるグルタチオンの肝臓中における貯蔵量が有意に高値であることから、上記C L Aが該グルタチオンの合成能を向上させるか或いはグルタチオン消費を抑制し、これが肝臓脂肪蓄積抑制の一因となっている可能性が考えられる。いずれにしても、本発明は従来開発された例のない新しい肝臓脂肪蓄積抑制組成

10 物乃至添加剤、もしくは肝臓脂肪の蓄積抑制方法を提供するものであり、これは医薬品分野や食品分野で非常に有効であると考えられる。

発明を実施するための最良の形態

本発明組成物は、有効成分としてC L Aを添加配合することを必須としている。

15 ここでC L Aとしては、従来、反芻動物由来の加工食品、特にヨーグルト等の乳製品等に含まれるもの、その精製品、化学合成品等のいずれでもよい。その製法等に関する詳細は、例えばハーラの文献(Ha, Y. L., et al., *Carcinogenesis*, Vol. 8, 1881-1887 (1987)) やシンらの文献 (Chin, S. F., et al., *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 5, 185-197 (1992)に記載されている。

20 好ましい代表的製造法としては、例えばリノール酸又はこれを含む天然の供給源、より具体的にはコーン油、サフラワー油、バター脂等と、ミルクホエー蛋白質とをほぼ当量で室温で混合して反応させる方法を例示することができ、該方法により得られるC L Aは9, 11-オクタデカジエン酸及び／又は10, 12-オクタデカジエン酸及びそれらの活性な異性体を含んでいる。之等は遊離形態

25 (液状) でもまた例えばナトリウム塩、カリウム塩等の無毒性塩やメタノール、エタノール等の適当なアルコールとのエステル(メチルエステル、エチルエステル等)の形態として、乾燥させた粉末形態でも、本発明において同様に有利に用いることができる。

上記9, 11-C L A及び10, 12-C L Aには、それぞれシス、シス、シ

ス、トランス、トランス、シス及びトランス、トランスの4つの幾何異性体が存在し、それらはいずれも本発明組成物の有効成分として用いることができる。通常、天然物等の供給源から調製されるC L Aの場合は、かかる異性体の2以上の混合物として得られ、本発明では之等は特に単離することなく混合物のままで用いるのが一般的であるが、勿論、常法に従って単離して用いることもできる。

本発明組成物は、上記C L Aを有効成分として含有させることを除いては、通常の食品組成物乃至医薬品と同様にして、適当な賦形剤乃至希釈剤等の担体を用いて、摂取乃至投与に適した形態に調製される。

上記食品組成物の形態としては、粉末、顆粒、錠剤、ブロック等の固剤形態及び飲料、スープ等に適した水性液、乳化液、分散液、懸濁液等の液剤形態を例示でき、之等は、適当な賦形剤、希釈剤、その他の可食性物質等の担体を用いて常法に従い調製される。

ここでは用いられる担体には、栄養源としての蛋白質、脂肪及び炭水化物が含まれる。該蛋白質としては、例えばカゼイン及びその塩類、ゼラチン及びその塩類、水溶性ゼラチン(酵素分解ゼラチン等)、全脂粉乳、脱脂粉乳、大豆蛋白、コーングルテンミール、小麦蛋白等を、脂肪としては、例えば大豆油、オリーブ油、中鎖トリグリセライド(M C T)、綿実油、ヒマワリ油、カカオ脂、ゴマ油、米油、サフラワー油、落花生油、パーム油、菜種油等を、また炭水化物としては例えばデキストリン、蔗糖、果糖、ブドウ糖等の单糖類、麦芽糖、マルトース等の二糖類、フラクトオリゴ糖、ラクトオリゴ糖、ガラクトシルラクトース、ラクトシュークロース等のオリゴ糖等をそれぞれ例示することができる。

特に好ましい本発明組成物における上記各成分の配合割合は、以下の範囲から選択される。

成 分	可能配合割合(重量%)	好適配合割合(重量%)	最適配合割合(重量%)
C L A	0.1 ~ 90	0.5 ~ 60	1 ~ 25
蛋白質	10 ~ 65	40 ~ 65	40 ~ 53
脂肪	5 ~ 90	5 ~ 80	10 ~ 18
炭水化物	15 ~ 70	15 ~ 40	20 ~ 35

尚、上記蛋白質量は、蛋白源としての純分換算量で表わされ、これは原料物質の窒素含量をケルダール法により測定して求めたものである。

更に、本発明組成物には、必要に応じてこの種食品に通常添加配合されることのよく知られている各種の添加剤を配合することができる。該添加剤としては、
5 例えは各種ビタミン類、ミネラル類、合成香料及び天然香料等の香料、天然甘味剤（ソーマチン、ステビア等）、合成甘味剤（サッカリン、ステビア抽出物、アスパルテーム等）、着色料等や風味物質（チーズ、チョコレート等）、更に例えはポリデキストロース、ペクチン酸及びその塩類、アルギン酸及びその塩類等の所謂
10 ダイエタリーフアイバー等を例示することができる。之等は1種単独でもまた2種以上組合ても利用できる。之等添加剤の配合割合は、特に限定されるものではないが、通常本発明組成物100重量部に対して0～20重量部程度の範囲から選択されるのが一般的である。

本発明組成物は、上記各成分を混合して調製され、その調製方法は特に制限されるものではないが、例えは脂溶性成分（油脂及びその他の油脂溶解性原料成分）に、必要に応じてレシチン、シュガーエステル等の通常慣用される乳化剤及び蛋白質、糖質等の乳化補助剤を加え、混合物を常法に従い機械的に乳化する方法を採用でき、これにより、本発明組成物を調製できる。

かくして得られる本発明組成物（液剤形態の本発明食品）は、これを適當な容器に充填した後、レトルト殺菌（120℃、20分）して保存性を有する製品とすることことができ、これは直接又は適宜希釈して利用できる。

上記の如くして調製される飲食品形態の本発明組成物の摂取量は、これを摂取する哺乳動物、とりわけヒトの年齢、体重、性別、肝臓脂肪の蓄積の程度等に応じて適宜決定でき、特に限定的ではないが、通常、乾燥重量として1回約10～
25 30g、全容量として約50～300ccの範囲から選択されるのがよい。

本発明組成物は、また、上記有効成分としてのCLAと共に、適當な製剤担体を用いて一般的な医薬製剤組成物の形態に調製して実用することもできる。該製剤担体としては、製剤の投与単位形態に応じて、通常使用される充填剤、增量剤、結合剤、付湿剤、崩壊剤、表面活性剤、滑沢剤等の希釈剤あるいは賦形剤適宜選

択使用することができる。

上記医薬製剤の投与単位形態としては、各種の形態が治療目的等に応じて選択でき、その代表的なものとしては錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤、カプセル剤、注射剤（液剤、懸濁剤等）、軟膏剤、輸液剤等が挙げられる。

5 錠剤の形態に成形するに際しては、上記製剤担体として例えば乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖、尿素、デンプン、炭酸カルシウム、カオリン、結晶セルロース、ケイ酸、リン酸カリウム等の賦形剤、水、エタノール、プロパンノール、単シロップ、ブドウ糖液、デンプン液、ゼラチン溶液、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、ポリビニルピロリドン等の結合剤、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、カンテン末、ラミナラン末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム等の崩壊剤、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリド等の界面活性剤、白糖、ステアリン、カカオバター、水素添加油等の崩壊抑制剤、第4級アンモニウム塩基、ラウリル硫酸ナトリウム等の吸収促進剤、グリセリン、デンプン等の保湿剤、デンプン、乳糖、カオリン、ベントナイト、コロイド状ケイ酸等の吸着剤、精製タルク、ステアリン酸塩、ホウ酸末、ポリエチレングリコール等の滑沢剤等を使用できる。

10 15 20 更に錠剤は必要に応じ通常の剤皮を施した錠剤、例えば糖衣錠、ゼラチン被包錠、腸溶被錠、フィルムコーティング錠あるいは二重錠、多層錠とすることができる。

丸剤の形態に成形するに際しては、製剤担体として例えばブドウ糖、乳糖、デンプン、カカオ脂、硬化植物油、カオリン、タルク等の賦形剤、アラビアゴム末、トラガント末、ゼラチン、エタノール等の結合剤、ラミナラン、カンテン等の崩壊剤等を使用できる。

液剤、乳剤、懸濁剤等の注射剤乃至輸液剤として調製される場合、之等は殺菌され且つ血液と等張であるのが好ましく、之等の形態に成形するに際しては、希釈剤として例えば水、エチルアルコール、マクロゴール、プロピレングリコール、

エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類等を使用できる。尚、この場合等張性の溶液を調整するに充分な量の食塩、ブドウ糖あるいはグリセリンを本発明組成物中に含有させてもよく、また通常の溶解補助剤、緩衝剤、無痛化剤等を5 添加してもよい。

更に、医薬製剤中には、必要に応じて着色剤、保存剤、香料、風味剤、甘味剤等や他の医薬品を含有させることもできる。

ペースト、クリーム、ゲル等の軟膏剤の形態に成形するに際しては、希釈剤として例えば白色ワセリン、パラフイン、グリセリン、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコン、ベントナイト等を使用できる。

かくして調製される医薬製剤形態の本発明組成物中に含有されるべき有効成分としてのC L Aの量は、特に限定されず広範囲より適宜選択されるが、通常医薬製剤中に約10～90%程度含有されるものとするのがよい。

上記医薬製剤の投与方法は特に制限がなく、各種製剤形態、患者の年齢、性別15 その他の条件、疾患の程度等に応じて決定される。例えば錠剤、丸剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤及びカプセル剤は経口投与され、注射剤乃至輸液剤は単独で又はブドウ糖、アミノ酸等の通常の補液と混合して静脈内投与され、更に必要に応じ単独で筋肉内、皮内、皮下もしくは腹腔内投与される。

上記医薬製剤の投与量は、その用法、患者の年齢、性別その他の条件、疾患の20 程度等により適宜選択されるが、通常有効成分である本発明化合物の量が1日当たり体重1kg当り約0.5～20mg程度とするのがよく、該製剤は1日に1～4回に分けて投与することができる。

実施例

25 以下、本発明を更に詳しく説明するため、本発明組成物の調製例を実施例として挙げ、次いで本発明組成物を含む食品組成物の肝臓脂肪蓄積抑制効果を明らかにする試験例を挙げる。尚、各例中、%とは重量%を意味する。

実施例 1

シス-9、トランス-11-オクタデカジエン酸300mg又は500mgを

含有するソフトカプセルを調製した。

実施例 2

下記表 1 及び表 2 に示す蛋白質成分、糖質成分、C L A成分及びその他の成分の所定量を水に加えて、飲料形態の本発明組成物を調製した。

5 尚、用いたC L A成分は、Nu-Chek-Prep, Inc. より購入した遊離脂肪酸の形態のC L A混合物である。その組成は次の通りである。

シス-9, トランス-11-C L A / トランス-9, シス-11-C L A	4 1 %
トランス-10, シス-12-C L A	4 4 %
シス-10, シス-12-C L A	1 0 %
10 その他	5 %

[表 1]

処方例 No.	1	2	3	4	5
蛋白質含量(g/100ml)	5.2	6.8	5.7	5.0	5.6
糖質含量 (g/100ml)	15.0	15.5	11.9	12.6	9.8
脂質含量 (g/100ml)	2.2	2.3	2.2	2.2	2.1
エネルギー (kcal)	100	110	90	90	80
蛋白質成分					
カゼイン	3.3	4.5	-	-	-
カゼインナトリウム	-	-	2.2	2.6	3.3
カゼインカルシウム	-	-	1.1	0.6	-
酵素分解カゼイン	-	-	0.7	2.2	-
酵素分解大豆蛋白	-	-	0.2	-	0.5
酵素分解ゼラチン	2.5	3.1	2.0	-	2.2
糖質成分					
デキストリン	-	-	8.4	-	-
マルトテトラオースシロップ [®]	20.0	14.9	-	10.3	-
マルトリオースシロップ [®]	-	5.8	8.4	-	13.1
マルトースシロップ [®]	-	-	-	6.5	-
C L A成分	2.2	2.3	2.2	2.2	2.1
他の成分					
ビタミン	適量	適量	適量	適量	適量
ミネラル	適量	適量	適量	適量	適量
香料	適量	適量	適量	適量	適量

[表2]

処方例 No.	6	7	8	9	10
蛋白質含量(g/100ml)	6.9	5.0	3.5	5.1	5.0
糖質含量 (g/100ml)	3.0	8.7	17.0	12.6	8.7
脂質含量 (g/100ml)	3.4	1.7	2.0	2.2	1.7
エネルギー (kcal)	70	70	100	90	70
蛋白質成分					
カゼイン	-	-	-	-	-
カゼインナトリウム	4.0	2.9	2.6	3.2	3.3
カゼインカルシウム	-	-	-	-	-
酵素分解カゼイン	0.6	0.4	1.2	-	-
酵素分解大豆蛋白	0.2	-	-	0.3	-
酵素分解ゼラチン	2.6	2.1	-	2.0	2.1
糖質成分					
デキストリン	3.1	-	-	-	13.0
マルトテトラオースシロップ [®]	-	6.0	22.7	16.8	-
マルトリオースシロップ [®]	1.3	-	-	-	-
マルトースシロップ [®]	-	5.6	-	-	-
C L A成分	3.4	1.7	2.0	2.3	1.7
その他の成分					
ビタミン	適量	適量	適量	適量	適量
ミネラル	適量	適量	適量	適量	適量
香料	適量	適量	適量	適量	適量

実施例 3

抗酸化ビタミン、CLA成分、乳化剤、油剤、糖質成分、有機酸、オリゴ糖及びその他の成分を下記表3及び表4に示すそれぞれの配合量で用いて、飲料形態5の本発明組成物を調製した。尚、CLA成分中のCLA混合物は、実施例2に示すそれと同一のものである。

{表3}

処方例 No.	1	2	3	4	5	6	7	8
抗酸化ビタミン(mg/100ml)								
β-カロチン	1	-	3	5	30	0.3	1	1
抽出カロチン	-	1	-	-	-	-	-	-
アスコルビン酸	60	50	120	1000	100	20	60	30
ビタミンE	-	-	2	5	-	-	-	2
CLA (mg/100ml)	300	300	600	1000	500	100	300	300
シス-9,トランス-11-CLA	-	-	-	-	-	-	-	-
CLA混合物								
乳化剤 (mg/100ml)	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量
油剤 (mg/100ml)	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量
糖質成分 (g/100ml)								
異性化糖	-	-	-	2	-	-	-	-
精製白糖	-	-	-	1	-	-	-	2
果糖	7	-	7	4	5	2	8	8
ブドウ糖	-	8	2	-	2	-	1	-
有機酸 (mg/100ml)								
クエン酸	500	600	600	200	500	200	400	400
酒石酸	-	-	200	-	100	-	-	-
リンゴ酸	-	-	-	-	100	-	-	100
フラクトオリゴ糖(g/100ml)	-	-	-	-	-	3	-	1
炭酸ガス容量 (Vol)	-	-	-	-	-	-	1	2
香料・甘味料	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量

[表4]

処方例 No.	9	10	11	12	13	14	15	16
抗酸化ビタミン (mg/100ml)								
リコ펜	1	-	3	5	30	0.3	1	1
ルテイン	-	1	-	-	-	-	-	-
アスコルビン酸	60	50	120	1000	100	20	60	30
ビタミンE	-	-	2	5	-	-	-	2
C L A (mg/100ml)								
ジ-9,トラン-11-CLA	-	-	-	-	-	-	-	-
C L A混合物	300	300	600	1000	500	100	300	300
乳化剤 (mg/100ml)	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量
油剤 (mg/100ml)	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量
糖質成分 (g/100ml)								
異性化糖	-	-	-	2	-	-	-	-
精製白糖	-	-	-	1	-	-	-	2
果糖	7	-	7	4	5	2	8	8
ブドウ糖	-	8	2	-	2	-	1	-
有機酸 (mg/100ml)								
クエン酸	500	600	600	200	500	200	400	400
酒石酸	-	-	200	-	100	-	-	-
リンゴ酸	-	-	-	-	100	-	-	100
ラクトスクロース (g/100ml)	-	-	-	-	-	3	-	1
炭酸ガス容量 (Vol)	-	-	-	-	-	-	1	2
香料・甘味料	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量

試験例 1

この試験は、生後18週頃より肥満を呈し、内臓や肝臓に脂肪が蓄積し、耐糖能異常をきたす遺伝的糖尿病モデルラット（OLETFラット、大塚製薬株式会社）及び対照ラット（LETOラット、大塚製薬株式会社）を用いて、C L Aの摂取が之等ラットの肝臓における脂肪の蓄積に及ぼす影響を調べたものであり、次の通り実施された。

(1) 実験動物及びその飼育

5週齢OLETFラット及びLETOラット（特開平4-252129号公報参照）を1週間の予備飼育の後試験に供した。各ラットを次の3群（1群8匹ずつ）に分け、各群ラットをそれぞれ以下に示す飼料にて18週間飼育した。

1群=コントロール食/LETO群

2群=コントロール食／OLETF群

3群=0.5%CLA食／OLETF群

(2) 飼育

飼育温度は23±1°Cとした。

5 飼育室の照明は朝7時から夜7時を明期とした。食餌は自由摂取させた。コントロール食としてAIN-76精製飼料(成長期ラットの標準飼料)を、また0.5w/w%CLA食として、該コントロール食に0.5%濃度となる量のCLAを添加した食をそれぞれ摂取させた。1日当たりの平均飼料摂取量は、28.0 6±1.96gであり、従って、3群における1日当たりのCLA摂取量は、0.14±0.01gとなった。

尚、試験期間中水は自由摂取させた。またCLAとしては、Nu-Chek-Prep, Inc.より購入した遊離脂肪酸の形態のCLAを用いた。その組成は前述した実施例2に示す通りである。

(3) 脂質重量及びトリグリセライド量の測定

15 上記飼育期間終了後、各群ラットを屠殺し、肝臓を摘出して、該肝臓の脂質を抽出した後、重量法に従って総脂質重量を求めた(フォルシュラの方法[Folch, J., Lee, M., and Sloane-Stanley, G.H., J. Biol. Chem., 226, 497-509 (1957)])。また、肝臓トリグリセライド量を和光純薬工業株式会社製測定キットであるトリグリセライドテストワコーを用いて測定した。グルタチオンの分析は、トヨオカらの方法を改変したHPLC法にて行なった[Toyooka, T., et al., Biomed. Chromatogr., 3, 166-172 (1989)]。

(4) 結果

得られた結果を下記表5に示す。

[表5]

群	ラット	飼 料	肝臓脂質含量 (mg/g 肝臓)	トリグリセラ イド量	GSH (μmol/g 肝臓)
1	LETO	コントロール食	59.9 ± 2.4	9.4 ± 2.4	5.35 ± 1.21
2	OLETF	コントロール食	162.0 ± 31.8	115.8 ± 33.9	4.61 ± 0.56
3	OLETF	CLA食	98.2 ± 13.2	46.6 ± 12.3	5.69 ± 0.65

上記表より、以下のことが明らかである。即ち、同一コントロール食の摂取の場合、遺伝的糖尿病モデルラットであるOLETFラットは、その対照ラットであるLETOラットに比較し、総脂質重量、トリグリセライド量とも有意に高値を示した。これに対して、0.5%CLAを含む飼料を摂取させたOLETFラットは、コントロール食を摂取させたOLETFラットに比較し、総脂質重量、トリグリセライド量とも有意に低値を示した。

尚、飼料摂取量、体重及び脂肪組織重量に関して、3群として用いた各OLETFラット間では有意な差は認められず、CLA摂取による個体差の影響はなかった。

10

産業上の利用可能性

本発明によって、CALを哺乳動物の投与または摂取させることにより、肝臓脂肪の過剰蓄積が抑制される。すなわち、CALを含有する肝臓脂肪蓄積抑制組成物及び肝臓脂肪蓄積抑制用食品添加剤は、肝臓脂肪の蓄積を抑制する効果が顕著である。従って、本発明によると、脂肪肝に由来する慢性肝炎、肝硬変等の疾患を有效地に予防できる。

請求の範囲

1. 共役ジエンリノール酸の有効量を製剤担体もしくは食品用担体と共に含有することを特徴とする肝臓脂肪蓄積抑制組成物。
2. 共役ジエンリノール酸がシス-9, トランス-11-オクタデカジエン酸、
5 トランス-10, シス-12-オクタデカジエン酸、それらの異性体、並びにそれらの無毒性塩及びエステルから選択される少なくとも1種である請求項1に記載の肝臓脂肪蓄積抑制組成物。
3. 食品形態である請求項1又は2に記載の肝臓脂肪蓄積抑制組成物。
4. 医薬品形態である請求項1又は2に記載の肝臓脂肪蓄積抑制組成物。
- 10 5. 共役ジエンリノール酸を有効成分として含有することを特徴とする肝臓脂肪蓄積抑制用食品添加剤。
6. 共役ジエンリノール酸の有効量を哺乳動物に投与または摂取させることを特徴とする肝臓脂肪の蓄積抑制方法。
7. 肝臓脂肪の蓄積を抑制するための医薬組成物または食品添加剤を調製する
15 ための共役ジエンリノール酸の使用。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/03911

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁶ A61K31/20, A61K31/23, A23L1/30

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ A61K31/20, A61K31/23, A23L1/30

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN), MEDLINE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO, 96/06605, A1 (WISCONSIN ALUMNI RESERCH FOUNDATION), 7 March, 1996 (07. 03. 96) & US, 5554646, A & EP, 731699, A1 & JP, 10-508189, A	1-5, 7
A	WO, 94/16690, A1 (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION), 4 August, 1994 (04. 08. 94) & US, 5428072, A & EP, 680318, A1 & JP, 8-505775, A	1-5, 7
A	WO, 96/38137, A1 (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION), 5 December, 1996 (05. 12. 96) & US, 5674901, A & EP, 831804, A1	1-5, 7
A	WO, 93/09772, A1 (SAGAMI CHEM RES CENTRE), 27 May, 1993 (27. 05. 93) & EP, 567653, A1 & JP, 5-139965, A & JP, 5-339154, A & US, 5436269, A	1-5, 7

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

"A"	Special categories of cited documents: document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"B"	earlier document but published on or after the international filing date	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&"	document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		

Date of the actual completion of the international search
13 November, 1998 (13. 11. 98)Date of mailing of the international search report
8 December, 1998 (08. 12. 98)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/03911

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP, 490561, A2 (EFAMOL HOLDINGS PLC), 17 June, 1992 (17. 06. 92) & JP, 4-290821, A	1-5, 7
A	JP, 9-194362, A (Bizen Kasei K.K.), 29 July, 1997 (29. 07. 97) (Family: none)	1-5, 7
A	JP, 4-300828, A (Kao Corp.), 23 October, 1992 (23. 10. 92) (Family: none)	1-5, 7
P, A	WO, 97/46230, A1 (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION), 11 December, 1997 (11. 12. 97) (Family: none)	1-5, 7
P, A	WO, 97/46118, A1 (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION), 11 December, 1997 (11. 12. 97) & US, 5760082, A	1-5, 7
E, A	WO, 98/37873, A1 (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION), 3 September, 1998 (03. 09. 98) (Family: none)	1-5, 7

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int. Cl⁶ A61K31/20, A61K31/23, A23L1/30

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））

Int. Cl⁶ A61K31/20, A61K31/23, A23L1/30

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

CAPLUS(STN), MEDLINE(STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO, 96/06605, A1 (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION) 7. 3月. 1996 (07. 03. 96) & US, 5554646, A & EP, 731699, A1 & JP, 10-508189, A	1-5, 7
A	WO, 94/16690, A1 (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION) 4. 8月. 1994 (04. 08. 94) & US, 5428072, A & EP, 680318, A1 & JP, 8-505775, A	1-5, 7
A	WO, 96/38137, A1 (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION) 5. 12月. 1996 (05. 12. 96) & US, 5674901, A & EP, 831804, A1	1-5, 7

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 13. 11. 98	国際調査報告の発送日 08.12.98
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官（権限のある職員） 森井 隆信 4C 9455 電話番号 03-3581-1101 内線 3454

C (続き) 関連すると認められる文献		関連する 請求の範囲の番号
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	
A	WO, 93/09772, A1 (SAGAMI CHEM RES CENTRE) 27. 5月. 1993 (27. 05. 93) & EP, 567653, A1 & JP, 5-139965, A & JP, 5-339154, A & US, 5436269, A	1-5, 7
A	EP, 490561, A2 (EFAMOL HOLDINGS PLC) 17. 6月. 1992 (17. 06. 92) & JP, 4-290821, A	1-5, 7
A	JP, 9-194362, A (備前化成株式会社) 29. 7月. 1997 (29. 07. 97) (ファミリーなし)	1-5, 7
A	JP, 4-300828, A (花王株式会社) 23. 10月. 1992 (23. 10. 92) (ファミリーなし)	1-5, 7
P, A	WO, 97/46230, A1 (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION) 11. 12月. 1997 (11. 12. 97) (ファミリーなし)	1-5, 7
P, A	WO, 97/46118, A1 (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION) 11. 12月. 1997 (11. 12. 97) & US, 5760082, A	1-5, 7
E, A	WO, 98/37873, A1 (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION) 3. 9月. 1998 (03. 09. 98) (ファミリーなし)	1-5, 7